

UNIVERZITA KARLOVA V PRAZE

Přírodovědecká fakulta

Studijní program: Klinická a toxikologická analýza



Anna Vlčková

Stanovení arsenu pomocí UV-fotochemického generování jeho
těkavých specií v prostředí kyseliny mravenčí s AAS detekcí

Determination of Arsenic Using UV-photochemical Generation of
the Volatile Species in Formic Acid Medium with AAS Detection

Bakalářská práce

Vedoucí bakalářské práce: RNDr. Václav Červený, Ph.D.

Konzultant: Mgr. Ondřej Linhart

Praha 2015

Prohlášení

Prohlašuji, že jsem tuto bakalářskou práci zpracovala samostatně a uvedla jsem všechny zdroje, ze kterých jsem čerpala informace. Tato práce, ani žádná její část nebyla použita k získání titulu na jiné univerzitě. Jsem si vědoma, že pokud bych chtěla práci použít za jiným účelem, mohu tak učinit pouze se souhlasem Univerzity Karlovy.

V Praze dne 15.5.2015

Podpis:

Tato práce vznikla za finanční podpory Grantové agentury Univerzity Karlovy v Praze (projektu GAUK 152214) a Univerzity Karlovy v Praze (projektu UNCE 204025/2012).

Poděkování

Na tomto místě bych ráda poděkovala svému školiteli RNDr. Václavu Červenému, PhD za odborné vedení, cenné připomínky a jeho ochotu a trpělivost. Poděkování také patří Mgr. Ondřeji Linhartovi za věnovaný čas a pomocnou ruku. V neposlední řadě patří poděkování mé rodině za podporu po celou dobu mého studia.

Abstrakt

V této bakalářské práci byla nejprve sestavena aparatura pro stanovení arsenu pomocí UV-fotochemického generování jeho těkavé sloučeniny s AAS detekcí a byly optimalizovány experimentální podmínky navrhované metody. Klíčovými parametry byly: délka reakční cívky ozařované UV světlem; místo zavádění reakčního plynu (vodíku) před UV-fotoreaktor a nosného plynu (argonu) před UV-fotoreaktor a do separátoru fází a jejich průtoky; koncentrace kyseliny mravenčí v nosném roztoku a jeho průtoková rychlost a velikost dávkovaného objemu vzorku.

Za optimálních podmínek navrhované metody byla naměřena kalibrační závislost. Pro porovnání výsledků bylo použito stanovení arsenu pomocí chemického generování jeho hydridu. Z porovnání těchto metod vychází chemické generování jednoznačně jako metoda citlivější, protože lze stanovovat koncentrace již od 5,7 ppb As, zatímco metodou UV-fotochemického generování lze stanovovat koncentrace až od 150 ppb As. Za stávajících podmínek je UV-fotochemické generování těkavých sloučenin z důvodu velmi nízké citlivosti (přibližně 16,5 % oproti chemickému generování) pro stanovení arsenu nevhodné.

Klíčová slova

Arsen, UV-fotochemické generování těkavých sloučenin, kyselina mravenčí, atomová absorpční spektrometrie, průtoková injekční analýza

Obsah

Seznam zkratk a symbolů	7
1. Úvod	9
1.1 Cíl práce	9
2. Teoretická část	10
2.1 Vlastnosti arsenu	10
2.2 Výskyt arsenu	10
2.2.1 Výskyt arsenu v pitné vodě	12
2.4 Toxicita arsenu	13
2.5 Atomová absorpční spektrometrie	14
2.6 Generování těkavých sloučenin	14
2.6.1 Chemické generování hydridů	15
2.6.2 Elektrochemické generování hydridů	15
2.6.3 UV-fotochemické generování těkavých sloučenin	16
3. Experimentální část	17
3.1 Použité přístroje	17
3.2 Použité chemikálie	17
3.2.1 Příprava standardů	18
3.3 Aparatura	18
3.4 Vyhodnocení výsledků	20
4. Výsledky a diskuze	22
4.1 Optimalizace experimentálních podmínek	22
4.1.1 Optimalizace průtoku a místa zavádění reakčního plynu vodíku	22
4.1.2 Optimalizace průtoku nosného plynu argonu	24
4.1.3 Optimalizace průtoků argonu - vrstevnicový graf	27
4.1.4 Optimalizace délky reakční cívky	28
4.1.5 Optimalizace koncentrace kyseliny mravenčí v nosném roztoku	30
4.1.6 Optimalizace průtoku nosného roztoku	31
4.1.7 Optimalizace objemu dávkovací smyčky	32
4.1.8 Souhrn optimálních podmínek metody	34
4.2 Kalibrace	34
4.2.1 Kalibrace při použití UV-fotochemického generování	34
4.2.2 Kalibrace při chemickém generování arsenovodíku	36

4.2.3 Porovnání UV-fotochemického a chemického generování těkavých sloučenin arsenu.....	37
5. Závěr	40
6. Literatura	41

Seznam zkratk a symbolů

A.....	absorbance (výška FIA píku)
AAS.....	atomová absorpční spektrometrie
c_{As}	koncentrace arsenu v roztoku
c_{HCOOH}	koncentrace kyseliny mravenčí v nosném roztoku
CHG.....	chemické generování hydridů
FIA.....	průtoková injekční analýza
k.....	směrnice lineární části kalibrace
L.....	délka reakční cívky
LOD.....	mez detekce
LOQ.....	mez stanovitelnosti
Ppb.....	jednotka koncentrace odpovídající $\mu\text{g} \cdot \text{l}^{-1}$
Ppm.....	jednotka koncentrace odpovídající $\text{mg} \cdot \text{l}^{-1}$
PTFE.....	polytetrafluorethylen (Teflon®)
q.....	úsek lineární části kalibrace
s_R	výběrová směrodatná odchylka
UV.....	ultrafialové záření
UVHG.....	UV-fotochemické generování hydridů
v_{Ar}	průtoková rychlost nosného plynu argonu
v_{DS}	objem dávkovací smyčky
v_{H_2}	průtoková rychlost reakčního plynu vodíku
v_{HCOOH}	průtoková rychlost nosného toku kyseliny mravenčí

Ttransmittance

Φ_0 intenzita záření před vstupem do vzorku

Φintenzita prošlého světla skrze vzorek

1. Úvod

Arsen je vysoce toxický prvek a proto je nutné vyvíjet nové citlivější analytické postupy pro jeho stanovení. Jeho toxicita závisí na formě, v jaké se vyskytuje. Arsenité sloučeniny jsou více toxické než arseničnany. Pro zjištění celkové toxicity je třeba provést stanovení jednotlivých specií arsenu ve vzorku. Za tímto účelem je vhodná např. kapalinovou chromatografií ve spojení s hmotnostním spektrometrem. Levnější a dostupnější alternativou pro stanovení arsenu a jeho specií rozdělených na koloně je atomová absorpční nebo fluorescenční spektrometrie s generováním hydridů, případně jiných těkavých sloučenin. Slibnou technikou se v tomto směru jeví UV-fotochemické generování těkavých sloučenin jako derivatizační krok mezi separací a detekcí.

1.1 Cíl práce

Tato bakalářská práce vznikla za účelem nalezení optimálních podmínek pro UV-fotochemické generování těkavých specií arsenu jako součást systematického studia využitelnosti různých způsobů generování těkavých sloučenin pro stanovení vybraných prvků.

Sestavit pro tento účel vlastní aparaturu, optimalizovat zapojení plynů argonu a vodíku a také vybrat jaká z nízkomolekulárních organických kyselin bude vhodnější pro generování těkavých sloučenin arsenu. Dále provést optimalizaci průtoku plynů, délky reakční cívky, koncentrace kyseliny v nosném toku a velikosti dávkovací smyčky. Za optimálních podmínek naměřit kalibrační závislost. Pro porovnání výsledků bylo nutno upravit aparaturu ke stanovení arsenu pomocí chemického generování jeho hydridu a rovněž naměřit kalibraci. Pokračováním této bakalářské práce bude studium interferencí při stanovení arsenu při použití UV-fotochemického generování.

2. Teoretická část

2.1 Vlastnosti arsenu

Arsen patří mezi nejdéle známé prvky, v dávné minulosti se uplatňoval hlavně v oboru travičství. Je to velmi toxický prvek, který má vlastnosti kovů i nekovů a patří mez tzv.metaloidy. Nejběžnějšími oxidačními stupni arsenu jsou jeho trojmocné a pětímocné formy. Nejčastěji se vyskytuje ve formě sulfidů.[1] Arsen existuje v řadě valenčních stavů, které hrají důležitou roli pro jeho chování a toxicitu.[2] Sloučeniny arsenu jsou silně toxické s vysokou kumulativní schopností v organismech. Elementární forma arsenu byla poprvé izolována roku 1250 alchymistou Albertem Magnusem. Z toxikologického hlediska patří k nejvýznamnějším sloučeninám oxid arsenitý (As_2O_3 ; CAS: 1327-53-3) a arsenovodík (AsH_3 ; CAS: 7784-42-1).

Při UV-fotochemickém generování vzniká z vodné složky oxidu arsenitého a plynného vodíku vnika kromě jiných sloučenin plynný arsan.

Arsan (alternativní název pro arsenovodík) je bezbarvý plyn s česnekovým zápachem, který je tepelně nestálý a je prudce jedovatý.[3] Již při koncentraci 250 ppm způsobuje jistou smrt. Tento plyn vzniká při rozkladu arsenidů kyselinami nebo redukcí arsenu pomocí atomárního (nascentního) vodíku a to je základem při tzv.Marsh-Liebigově zkoušce, což je velmi citlivá a jednoduchá metoda pro důkaz arsenu. Arsan se snadno oxiduje na oxid arsenitý a vodu.

2.2 Výskyt arsenu

V životním prostředí se arsen vyskytuje v půdě, ovzduší i ve vodách. Sloučeniny běžně vyskytujícího se arsenu jsou uvedené v Tab.1.[4] Koloběh arsenu a jeho uvolňování do životního prostředí je děj zcela přirozený, avšak lidé jej urychlují svou činností v oblasti těžby rud, metalurgie, aplikací některých insekticidů a herbicidů a také spalováním málo kvalitního uhlí s vysokým obsahem síry. Průměrný obsah arsenu v uhlí je 150 ppm. [5]

Arsen má pouze jeden stabilní izotop (^{75}As) a zaujímá 47. místo mezi 88 přirozeně se vyskytujícími prvky.[6] Vzhledem k tomu, že arsen se vyskytuje většinou

v minerální podobě společně s mědí, niklem, kobaltem, olovem, stříbrem a cínem, vyrábí mnoho arsenu jako vedlejší produkt průmyslového zpracování těchto kovů.

V přírodních vodách je značný rozsah koncentrací arsenu, v rozmezí od 0,5 µg.l⁻¹-do 5000 µg.l⁻¹. [7] Ve sladké vodě jsou koncentrace menší než 10 µg.l⁻¹. Existují však území s vysokou koncentrací arsenu zejména v podzemních vodách. Dobře známé oblasti s vysokým obsahem: Argentina, Mexiko, Čína a Maďarsko, Západní Bengálsko (Indie), Bangladéš a Vietnam.

I kontaminace půdy je velmi rozšířená. Bylo zjištěno, že kapradina *Pteris vittata* má jedinečné schopnosti arsen z půdy akumulovat ve svých nadzemních částech rostliny a to především v listech, což by mohlo být použito při čištění kontaminovaných půd. [8]

Tab.1: Běžně detekované druhy arsenu v oblasti životního prostředí a biologických systémů [4]

Název	Zkratka	Chemický vzorec
Arsenitan (arsenitá kyselina)	As ^{III}	As(OH) ₃
Arseničnan (arseničná kyselina)	As ^V	AsO(OH) ₃
Monomethylarseničná kyselina	MMA ^V	CH ₃ AsO(OH) ₂
Monomethylarsenitá kyselina	MMA ^{III}	CH ₃ As(OH) ₂
Dimethylarseničná kyselina	DMA ^V	(CH ₃) ₂ AsO(OH)
Dimethylarsenitá kyselina	DMA ^{III}	(CH ₃) ₂ AsOH
Dimethylarsinoyl ethanol	DMAE	(CH ₃) ₂ AsOCH ₂ CH ₂ OH
Trimethylarsin oxid	TMAO	(CH ₃) ₃ AsO
Tetramethylarseničný ion	Me ₄ As ⁺	(CH ₃) ₄ As ⁺
Arsenobetain	AsB	(CH ₃) ₃ As ⁺ CH ₂ COO ⁻
Arsenobetain 2	AsB-2	(CH ₃) ₃ As ⁺ CH ₂ CH ₂ COO ⁻
Arsenocholin	AsC	(CH ₃) ₃ As ⁺ CH ₂ CH ₂ OH
Trimethylarsenitan	TMA ^{III}	(CH ₃) ₃ As
Arsiny	AsH ₃ , MeAsH ₂ , Me ₂ AsH	(CH ₃) _x AsH _{3-x} (x=0–3)
Ethylmethylarsiny	Et _x AsMe _{3-x}	(CH ₃ CH ₂) _x As(CH ₃) _{3-x} (x=0–3)
Fenylarseničná kyselina	PAA	C ₆ H ₅ AsO(OH) ₂

2.2.1 Výskyt arsenu v pitné vodě

Zdroje pitné vody obsahují arsen především prostřednictvím přirozeně se vyskytujících rozpuštěných minerálů a rud.[9] Nejdůležitější expoziční cesta arsenu do lidského těla je perorální, tedy skrze potraviny a vodu. Arsen v pitné vodě je významnou příčinou negativních účinků na zdraví lidí i zvířat v některých oblastech. Existuje celá řada regionů, kde sloučeniny arsenu mohou být přítomny ve zdrojích pitné vody, zejména v podzemních vodách.

Arsen je vzhledem k jeho toxicitě vysoce prioritní látku pro screening zdrojů pitné vody.[10] Na území České Republiky jsou hodnoty arsenu v pitné vodě velmi nízké. Vyšší hodnoty jsou pouze v některých lokalitách, které mají geologické podloží bohaté na sloučeniny a rudy obsahující arsen.

Voda v České Republice obvykle obsahuje méně než 0,010 mg arsenu na 1 litr. V lokalitách s geochemickou anomálií, jako například v Kutné Hoře a jejím okolí, může být obsah arsenu ve vodě podstatně vyšší a může dosahovat koncentrace až 1-5 mg.l⁻¹. [11] Přípustné limity pro vodu v České Republice jsou zaneseny v Tab. 2.

Tab.2: Přípustné koncentrace arsenu ve vodě:

Druh vody	Vyhláška	Nejvyšší mezní hodnota
Kojenecká voda (balená)	vyhl.č. 275/2004 Sb. ministerstva zdravotnictví	0,005 mg/l
Pramenitá voda (balená)	vyhl.č. 275/2004 Sb. ministerstva zdravotnictví	0,005 mg/l
Minerální voda (balená)	vyhl.č. 275/2004 Sb. ministerstva zdravotnictví	0,01 mg/l
Pitná voda	vyhl. č. 252/2004 Sb ministerstva zdravotnictví	0,01 mg/l
Povrchová voda	nařízení vlády č. 61/2003 Sb	0,02 mg/l (pokud se nepoužívá jako pitná voda)
Odpadní voda	podle nařízení vlády č. 61/2003 Sb	Od 0,1 mg/l do 1 mg/l (Záleží na odvětví průmyslu)

2.4 Toxicita arsenu

U arsenu nebylo dokázáno, že by byl nezbytný pro člověka.[9] V pitné vodě je považován za nejhorší kontaminant, protože je u něj prokázáno, že způsobuje rakovinu u člověka prostřednictvím spotřeby pitné vody. Existují přesvědčivé důkazy z epidemiologických studií o souvislosti s rozvojem rakoviny, zejména kůže, močového měchýře a plic. V několika částech světa je arsenem vyvolané onemocnění významným problémem veřejného zdraví. Existují však značné nejistoty a spory jak mechanismus karcinogenity funguje a jak vypadá tvar křivky závislosti odpovědi na dávce při nízkých hodnotách. Anorganické sloučeniny arsenu se zařazují do IARC (International Agency for Research on Cancer) ve skupině 1 (karcinogenní pro lidi), na základě dostatečných důkazů pro karcinogenitu u lidí a omezených důkazů karcinogenity u zvířat.

Je prokázáno, že chronické působení arsenu má významné karcinogenní, mutagenní i teratogenní účinky. Akutní otravy arsenem se projevují zmateností, průjmy nebo zvracením, svalovými křečemi, bolestí srdce a při vyšších koncentracích i zástavou srdce. Všichni se v běžném životě setkáváme s nízkou expozicí arsenu.[12]

Lidé mohou být vystaveni arsenu příjmem potravy a vody, při vdechování, dermální absorpci, a z půdy.[13] Inhalační expozice může pocházet z průmyslových emisí, kouření cigaret a dalších zdrojů. Inhalace arsenu závisí na velikosti částic a absorpce závisí na rozpustnosti chemické formy arsenu. Rizika spojená s dermální absorpcí anorganického arsenu jsou obecně daleko nižší než při požití. Stejně jako požití, jakékoliv dermální účinky budou záviset na zdroji arsenu.

Arsen v elementární formě není sám o sobě jedovatý, ale při biotransformaci je metabolizován na toxičtější látky, které jsou poté vyloučeny močí s poločasem 4 dny. [10] Arsen vázaný v organických sloučeninách má také značnou toxicitu, ale existují i sloučeniny organicky vázaného arsenu, které jsou netoxické.

Není známa letální dávka pro člověka, vždy závisí na typu sloučeniny arsenu a také na včasném vyhledání lékaře. Otrava arsenem se většinou řeší podáním chelátů, které váží sloučeninu do komplexů, a ty jsou pak snadněji a rychleji vyloučeny z těla. V literatuře jsou zaznamenány případy lidí, kteří zkonzumovali oxid arsenitý v gramových dávkách a přežili díky rychlému zásahu lékařů.[14]

2.5 Atomová absorpční spektrometrie

Atomová absorpční spektrometrie (AAS) je optická analytická metoda využívající absorpce elektromagnetického záření specifické vlnové délky analyzovaným prvkem.[15][16] Touto metodou lze selektivně stanovit až 60 prvků. Atomy různých prvků totiž absorbují elektromagnetické záření pro ně charakteristické vlnové délky na rezonanční čáře, kterou samy emitují. Z tohoto důvodu se pro stanovení arsenu využívá absorpce při vlnové délce 193,7 nm.

Atomový absorpční spektrometr má čtyři hlavní části: zdroj primárního záření, absorpční prostředí, monochromátor (disperzní prvek) a detektor.[17] Po ozáření prvku při určité vlnové délce, dojde k absorpci záření volnými atomy. Absorbance je vyjádřena jako logaritmus podílu původního a prošlého záření. Tento vztah (1) byl popsán jako Lambertův-Beerův zákon:

$$A = -\log T = -\log (\Phi / \Phi_0) \quad (1)$$

kde T je transmitance, Φ_0 je intenzita záření před vstupem do vzorku, Φ je intenzita prošlého světla.

Atomová spektrometrie ve spojení s generováním hydridů se těší stále většímu zájmu o anorganické stopové a ultrastopové analýzy z důvodů relativně nízkých nákladů, velké citlivosti, elementární specifičnosti a vysoké účinnosti zavedení vzorku. [18]

2.6 Generování těkavých sloučenin

Generování těkavých sloučenin je obecný termín popisující převod prvku z analytu (sloučenina, v níž se prvek vyskytuje ve vzorku) na těkavou sloučeninu (nejčastěji hydrid).[19] Technika generování hydridů byla poprvé popsána Walterem Holakem roku 1969. Ve spojení s AAS se vyznačuje poměrně vysokou citlivostí a jednoduchou instrumentací. Je založena na tvorbě kovalentního hydridu, který je po vytěkání do plynné fáze veden do atomizátoru.[20]

2.6.1 Chemické generování hydridů

Nejrozšířenějším způsobem generování těkavých sloučenin pro analytické účely je tradiční chemické generování hydridů (CHG).[21] Redukce kovových iontů na těkavý hydrid se obvykle provádí ve vodném prostředí za použití různých redukčních činidel a účinnost tvorby hydridů silně závisí na formě analytu ve vzorku. Původní mechanismus redukce nascentním vodíkem vznikajícím při rozpouštění např. zinku v roztoku kyseliny chlorovodíkové byl nahrazen při použití opět roztoku vzorku a kyseliny chlorovodíkové a roztoku účinnějšího redukčního činidla NaBH_4 mechanismem složitějším

K nejčastěji používaným technikám HGAAS patří dávkování vzorky do proudu kyseliny nebo NaBH_4 , jde o tzv. průtokovou injekční analýzu (FIA).[22]

Kovové ionty se převádějí do těkavých forem pomocí redukce ve vodném prostředí. Výroba hydridů je velmi závislá na tom, v jaké formě arsen obsahuje. Rovnice reakce znázorněna na Rov. 2.



2.6.2 Elektrochemické generování hydridů

Jako alternativa k chemickému generování hydridů vznikla také technika elektrochemického generování těchto těkavých sloučenin.[23] Její nespornou výhodou je redukce stanovovaného prvku a tvorba hydridu probíhající průchodem elektrického proudu na povrchu katody, tudíž není třeba používat drahé, nestabilní a mnohdy analytem do jisté míry kontaminované redukční činidlo. V používaných roztocích vzorků a minerálních kyselin dostupných ve větší čistotě než NaBH_4 je tedy možné dosáhnout nižších mezí detekce a stanovitelnosti. Navzdory tomu ale není elektrochemické generování hydridů výrazně vhodnější než CHG, protože se vyznačuje nižší účinností konverze analytu na hydrid v plynné fázi a další nevýhodou této techniky je možnost kontaminace nebo pasivace povrchu elektrody a tudíž vyšší riziko interferencí.

2.6.3 UV-fotochemické generování těkavých sloučenin

Při převedení prvku na těkavé sloučeniny je využíváno UV záření jako zdroj energie.[24] Při osvětlení prvku v prostředí nízkomolekulární organické kyseliny a plynného vodíku, může vznikat radikálový vodíkový iont, který vytvoří s prvkem těkavé sloučeniny, které jsou poté unášeny do vyhřívané křemenné trubice a detekovány atomovou absorpční spektrometrií. Bylo zjištěno, že rychlost průtoku a složení nosného plynu má významný vliv na reakci.

Reaktivní volné radikály mohou být generovány použitím ultrafialového světla. Ty zahrnují oxidační činidla (např. hydroxylový radikál) nebo primární redukční činidla (donory elektronů), z nichž mohou být vytvořeny různé stabilní koncové produkty nebo důležité meziprodukty.[25]

Literatura, ze které by šly vyvodit jasné závěry o mechanismech fotochemického generování, zatím neexistuje. Pro některé prvky byly však navrženy spekulace o možných mechanismech reakcí.[26] Pro arsen však nejsou dostupné ani spekulace o mechanismu ani jiná literatura, která by charakterizovala podmínky pro stanovení arsenu fotochemickým generováním.

Většina testovaných prvků produkovala velmi nízký signál během prvních 10 sekund z ozáření a generování těkavé látky byla zcela závislá na přítomnosti UV světla.[25] U mnoha prvků po vypnutí UV lampy signál klesl k nule ihned nebo velmi pomalu klesal, což naznačuje, že generování může zahrnovat nejméně tři kroky: redukce iontů, tvorba těkavých látek, a jejich přenos do plynné fáze.

Fotochemické generování poskytuje několik jedinečných výhod jako málo náročné požadavky na aparaturu, eliminace potřeby tetrahydridoboritanu a další. Tato technika může být použita pro kvantitativní analýzu širokého rozsahu prvků, jako například Se, As, Hg, Ni, Fe, Co, Sb, Bi, Te, I a Cd.[27]

3. Experimentální část

3.1 Použité přístroje

K práci byly využívány tyto přístroje:

- Atomový absorpční spektrometr Varian SpectrAA-300A (Varian, Austrálie)
- Programovatelná peristaltická pumpa Materflex (Cole-Parmer, USA)
- Zdroj napětí pro UV-generátor Modus SB 18 (Modus s.r.o., Česká Republika)
- As-výbojka s dutou katodou (Heraeus, Německo) jako zdroj záření při vlnové délce 193,7nm, napájecím proudem 12 mA a šířkou spektrálního intervalu 0,5nm.
- Křemenný atomizátor vlastní výroby kombinovaný se separátorem fází s nuceným odtahem vyhříváný na 950°C jednotkou EHA 10 (RMI, Česká republika)
- Rtuťová nízkotlaká zářivka jako zdroj UV-záření (253,7 nm, 20 W, Ushio, Japonsko)
- Čerpací a spojovací hadičky Tygon různých velikostí
- PTFE hadičky (Supelco, USA) různých vnitřních průměrů
- Spojovací materiál (Supelco, USA)
- Digitální průtokoměr – massflowcontroller2x (Cole-Parmer, USA)
- Kuličkový průtokoměr N112-02 (Cole-Parmer, USA)
- Dvoucestný FIA ventil V-451 (Upchurch Scientific, USA)
- Injekční stříkačka o velikosti 10 ml (Hamilton, USA)
- Analytické váhy typ RC 210D (Sartorius, USA)

3.2 Použité chemikálie

K práci byly využívány tyto chemikálie:

- Deionizovaná voda (18 MΩ·cm), ze zařízení (Milli Q_{PLUS}, Millipore, USA)
- Hydroxid sodný -NaOH (Lachner, Česká Republika)

- Kyselina mravenčí -HCOOH (Sigma Aldrich, USA, čistota $\geq 98\%$)
- Zdroj arsenu -As₂O₃ (A.R.Grande, England)
- Kyselina chlorovodíková (Analytika spol. s.r.o., Česká republika, čistota 35 %)
- Tetrahydridoboritan sodný –NaBH₄ (FlukaAnalytical, USA, čistota $\geq 99\%$)
- Použité plyny:
 - Argon (Linde Technoplyn, Česká republika, čistota 99,998 %)
 - Vodík (Linde Technoplyn, Česká republika, čistota 99,998 %)

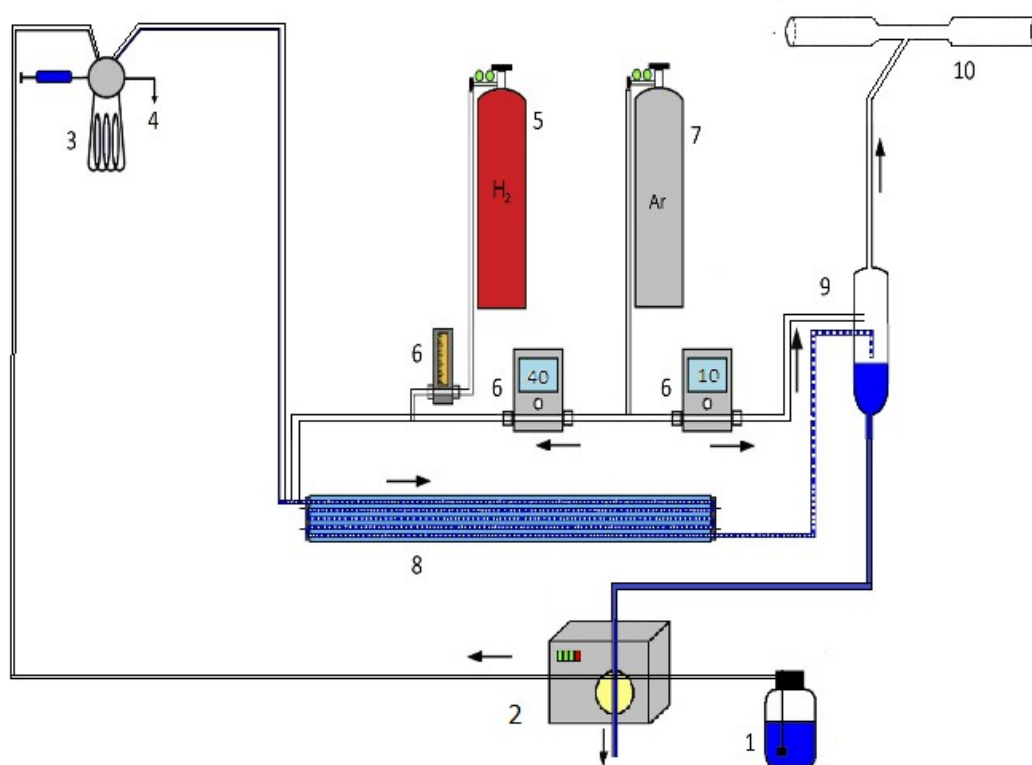
3.2.1 Příprava standardů

Standard arsenu byl připraven navážením 0,0666 g oxidu arsenitého a následným rozpuštěním v deionizované vodě do 25ml odměrné baňky. Do roztoku byl přidán hydroxid sodný, protože As₂O₃ se rozpouští pouze v alkalickém prostředí. Z tohoto roztoku byly připraveny všechny roztoky arsenu potřebné pro měření. Tyto roztoky už byly ředěny roztoky s takovou koncentrací kyseliny mravenčí, která odpovídala koncentraci v nosném toku.

3.3 Aparatura

Schéma použité aparatury je znázorněno na Obr. 1. Pomocí peristaltické pumpy byl čerpán nosný tok (roztok kyseliny mravenčí o zvolené koncentraci) do dávkovací smyčky, kde byl dávkován vzorek arsenu se stejnou koncentrací kyseliny mravenčí. Z dávkovací smyčkou byla do aparatury zavedena směs vodíku a argonu v určitém poměru. V reaktoru, který se skládal z teflonové hadičky omotané kolem nízkotlaké rtuťové zářivky bez ochranné luminiscenční vrstvy, vznikl působením UV-záření v prostředí zředěné kyseliny mravenčí z rozpuštěných iontů As³⁺ arsenovodík nebo jiná těkavá sloučenina arsenu. Pro ochranu před produkovaným UV zářením byla zářivka umístěna v papírovém tubusu s vnitřním povrchem pokrytým hliníkovou odraznou folií. Těkavá sloučenina arsenu byla poté unášena až do separátoru fází, kde byly odděleny

plynné složky od složek kapalných. Kapalná fáze byla odsávána opět pomocí peristaltické pumpy. Do separátoru fází byl ještě navíc přiváděn argon za účelem zmenšení šumu linie signálu. Plynná složka byla atomizována pomocí externě vyhřívaného atomizátoru a následně byl atomární arsen detekován pomocí AAS.



Obr.1 Schéma aparatury

- | | |
|------------------------------|------------------------------|
| 1. Zásobník s HCOOH | 6. Průtokoměr |
| 2. Peristaltická pumpa | 7. Zásobní láhev s argonem |
| 3. Dávkovací smyčka | 8. UV lampa s reakční cívkou |
| 4. Odtok přebytečného vzorku | 9. Separátor fází |
| 5. Zásobní láhev s vodíkem | 10. Atomizátor |

3.4 Vyhodnocení výsledků

Měření každého modelového vzorku bylo vždy prováděno nejméně třikrát a z naměřených hodnot výšek FIA píků byl počítán aritmetický průměr a výběrová směrodatná odchylka, která byla v grafech znázorňována jako chybová úsečka absorbance.

Experimentální podmínky měření jsou vždy uvedeny pod grafem příslušných optimalizačních i kalibračních závislostí. Uváděná citlivost metody je dána směrnicí přímky v lineárním úseku kalibrační závislosti, kdy platí vztah (3):

$$A = k \cdot c + q \quad (3)$$

kde A je výška FIA píku (odezva přístroje), c je koncentrace arsenu v kalibračním roztoku, k je směrnice a q je úsek lineárního úseku kalibrace.[28]

Pro zjištění dalších důležitých charakteristik metody bylo nutno vypočítat také výběrovou směrodatnou odchylku s_R podle vztahu (4):

$$s_R = \sqrt{\frac{\sum_i (x_i - \bar{x})^2}{n - 1}} \quad (4)$$

Mez detekce (LOD) je nejnižší možná stanovitelná koncentrace. Výpočet byl proveden ze vztahu (5). Mez stanovitelnosti (LOQ) je koncentrace, při které kvantitativní výsledky lze pozorovat s vysokým stupněm spolehlivosti. Tato hodnota byla vypočtena dle vztahu (6) [29]

$$\text{LOD} = (3 \cdot s_R - q) / k \quad (5)$$

$$\text{LOQ} = (10 \cdot s_R - q) / k \quad (6)$$

Pro stanovení opakovatelnosti byla provedena série deseti měření stejného roztoku arsenu za sebou. Z těchto hodnot byla vypočtena směrodatná odchylka a průměr, které byly dosazeny do rovnice č.7 pro vypočtení relativní směrodatné odchylky.

$$RSD = (s_R / \bar{x}) \cdot 100\% \quad (7)$$

4. Výsledky a diskuze

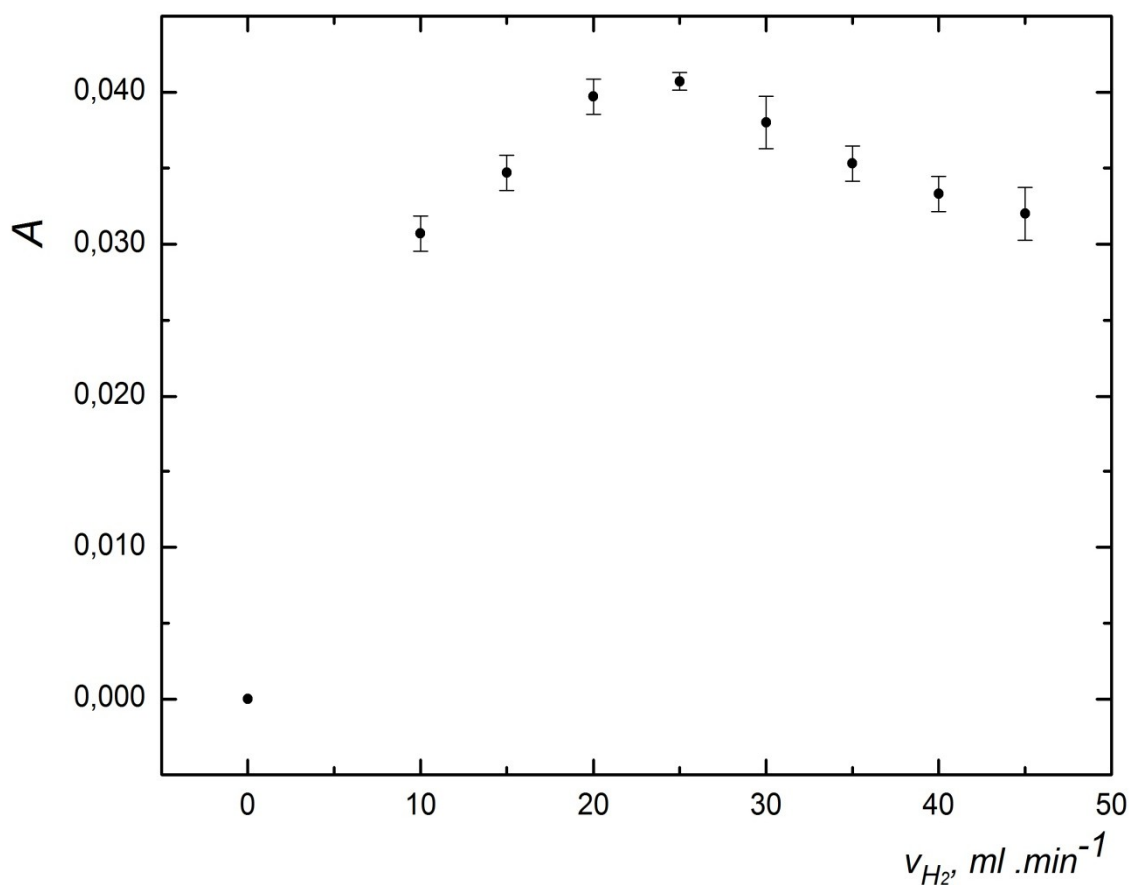
4.1 Optimalizace experimentálních podmínek

Před začátkem měření byly v dostupné literatuře hledány podmínky pro stanovení arsenu pomocí UV-fotochemického generování těkavých sloučenin. Jak je uvedeno v teoretické části práce v kapitole 2.6.3, žádný konkrétní údaj o stanovení arsenu s využitím této techniky dosud nebyl publikován, což je zvláštní, protože o stanovení ostatních prvků existuje dostatečné množství publikací. Z informací zveřejněných o stanovení ostatních prvků tvořících těkavé sloučeniny při UV-fotochemické reakci byla bez ověření použitelná snad jen teplota vyhřívání atomizátoru 950°C. Prvotní pokusy změřit alespoň nějaký signál byly neúspěšné pro příliš nízkou koncentraci As v modelových vzorcích, kyseliny mravenčí v nosném roztoku a malé průtoky plynů. U každého z optimalizovaných parametrů bylo třeba sestavit graf závislosti absorbance na dané veličině. Některé optimalizace musely být provedeny opětovně z důvodu změny jiného parametru o velkou hodnotu, nebo z důvodu změny zapojení plynů na aparatuře

4.1.1 Optimalizace průtoku a místa zavádění reakčního plynu vodíku

Experimentálně bylo zjištěno, že nejen pro atomizaci ale i pro tvorbu těkavých sloučenin arsenu při UV-fotochemickém generování je nezbytné zavádět do aparatury vodík. Nejprve byl vodík zaváděn pouze do separátoru fází a při tomto zapojení byly také získány první signály pro vysoké hodnoty průtoku vodíku. Od tohoto zapojení muselo být upuštěno, protože vodík o vysokém průtoku v atomizátoru začal u konců detekční trubice hořet svítivým plamenem, i když se předtím tomu tak nedělo. Několikrát byl vyčištěn atomizátor i separátor fází, ale bezvýsledně. Proto byl přívod vodíku zapojen před reakční cívku a byla změřena závislost absorbance na průtoku vodíku, která byla vynesena do grafu na Obr. 2. Při nulovém průtoku vodíku se pravděpodobně netvoří těkavé hydridy a tomu odpovídá nulová hodnota absorbance. Strmý nárůst signálu při zvyšování průtoku vodíku od 0 do 20 ml.min⁻¹ je pravděpodobně způsoben nutností dodat do systému dostatek vodíkových radikálů, ať už do UV-fotochemického reaktoru nebo do atomizátoru, kde jsou také třeba.

Pro další měření byla vybrána hodnota $25 \text{ ml} \cdot \text{min}^{-1}$ z důvodu nejvyššího získaného signálu. Při vyšších průtocích vodíku docházelo pravděpodobně k zániku radikálů vodíku v atomizátoru s kyslíkovými radikály a k tvorbě vodní páry, což se projevilo poklesem absorbance i nárůstem šumu linie signálu. Průtoková rychlost jakéhokoli plynu procházejícího generátorem těkavých sloučenin nepochybně velmi ovlivňuje dobu, po kterou se pohybuje analyt reaktorem. Čím vyšší je průtok plynu (vodíku nebo argonu) reaktorem, tím se snižuje doba působení elektromagnetického záření.



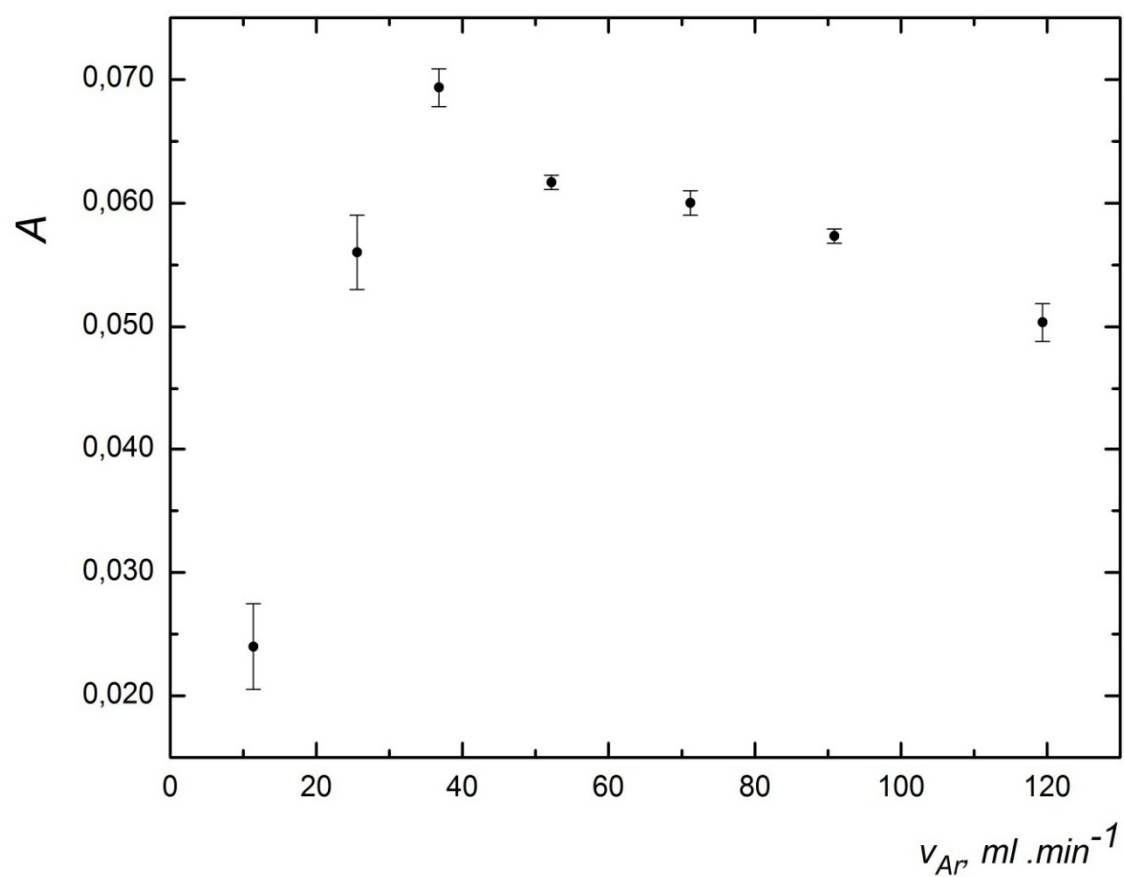
Obr. 2: Závislost absorbance na průtoku vodíku reakční cívkou

Vzorek: 200 ppb As v prostředí $1 \text{ mol} \cdot \text{l}^{-1} \text{ HCOOH}$

$c_{\text{HCOOH}} = 1 \text{ mol} \cdot \text{l}^{-1}$ $L = 2,51 \text{ m}$, $V_{\text{DS}} = 1300 \mu\text{l}$, $v_{\text{Ar}} = 72 \text{ ml} \cdot \text{min}^{-1}$ (před reakční cívkou), $v_{\text{HCOOH}} = 2,9 \text{ ml} \cdot \text{min}^{-1}$, $t = 950^\circ\text{C}$

4.1.2 Optimalizace průtoku nosného plynu argonu

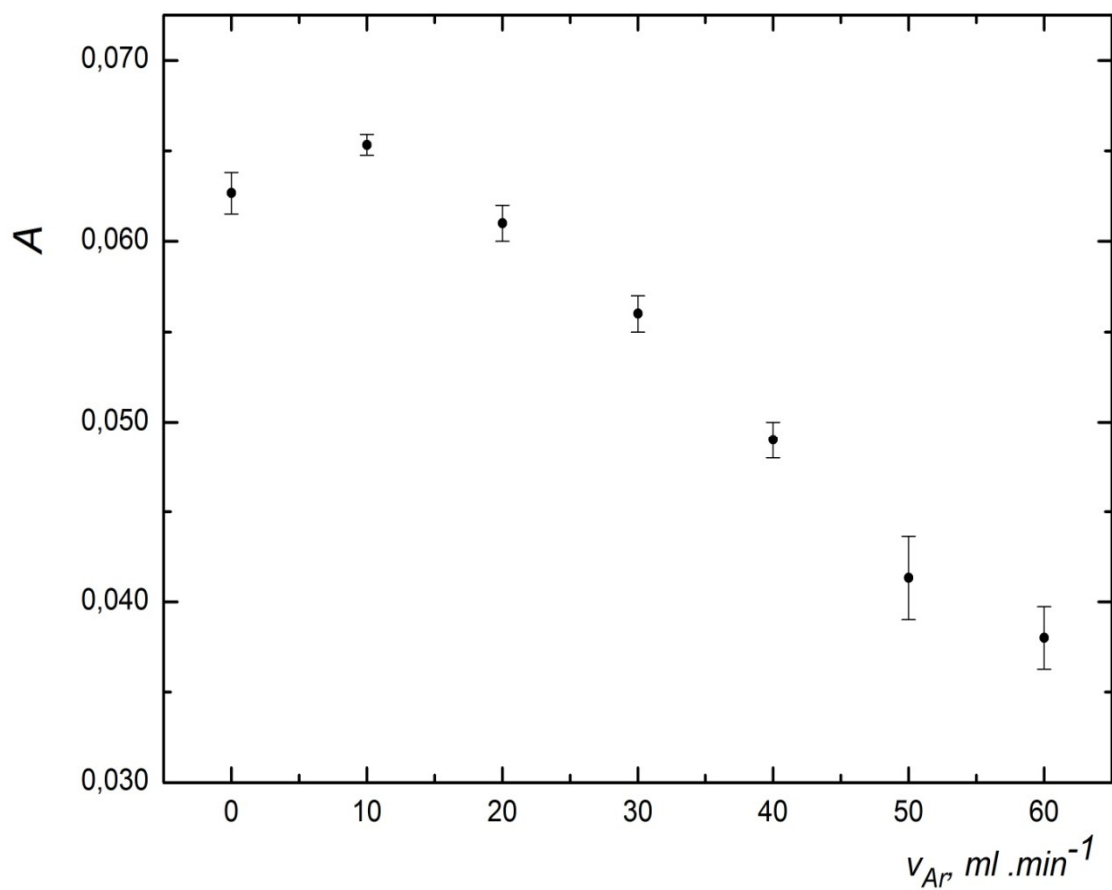
Jako nosný plyn byl zvolen argon a bylo potřebné zjistit, jaké zapojení a průtok tohoto plynu bude nejvhodnější. Nejprve byl argon zaváděn pouze před reakční cívkou a byla měřena závislost absorbance na průtoku argonu. Hodnoty byly vyneseny do grafu na Obr. 3. Z uvedené závislosti vyplývá, že je zapotřebí určitého minimálního průtoku inertního plynu pro účinné uvolnění generovaných těkavých sloučenin do plynné fáze a jejich následné vymytí z aparatury a přenos do atomizátoru. Maximum v grafu je při hodnotě $37 \text{ ml} \cdot \text{min}^{-1}$, ale i při této hodnotě byla linie signálu velmi kostrbatá. Při vyšších průtocích již však dochází ke zkrácení doby pohybu analytu v reakční cívce generátoru a také k rychlejšímu odvanutí detekovaných volných atomů ven z atomizátoru. Čím nižší průtoková rychlost argonu byla použita, tím větší šum základní linie byl pozorován. Proto byla přestavěna aparatura a argon byl zaváděn také do separátoru fází pro zmenšení šumu základní linie a byly sestrojeny další dva grafy pro optimalizaci průtokové rychlosti argonu při vstupu před reakční cívkou (Obr. 4.) a před vstupem do atomizátoru, tj. do separátoru fází (Obr. 5.). Z grafů vyplývá, že optimální hodnota průtoku argonu před reakční cívkou byla $40 \text{ ml} \cdot \text{min}^{-1}$ a pro průtok argonu zaváděného do separátoru fází byla $10 \text{ ml} \cdot \text{min}^{-1}$. Pro ověření byl vytvořen vrstevnicový graf Obr. 6 (str.27).



Obr. 3: Závislost absorbance na průtoku argonu reakční cívkou generátoru

Vzorek: 200 ppb As v prostředí $1 \text{ mol} \cdot \text{l}^{-1} \text{HCOOH}$

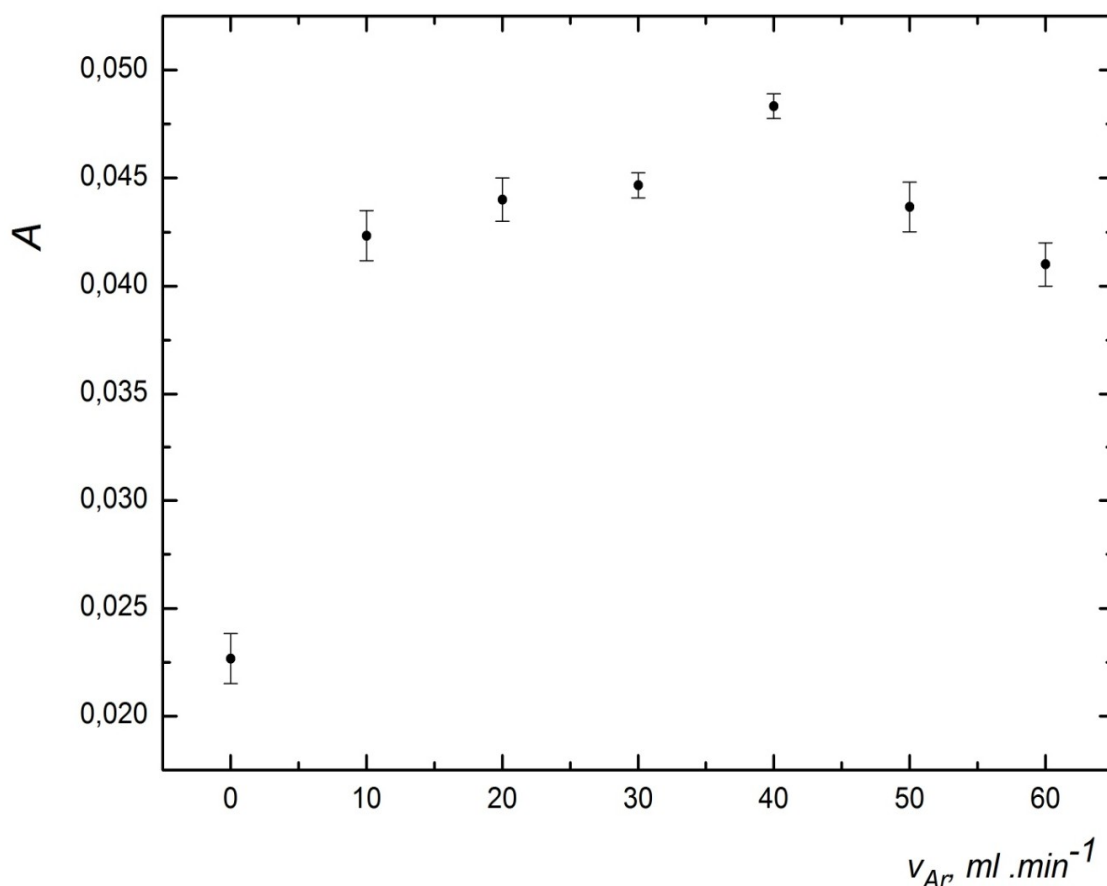
$c_{\text{HCOOH}} = 1 \text{ mol} \cdot \text{l}^{-1}$, $V = 2,5 \text{ l}$, $V_{DS} = 1300 \mu\text{l}$, $v_{H_2} = 45 \text{ ml} \cdot \text{min}^{-1}$ (před reakční cívkou), $v_{\text{HCOOH}} = 2,9 \text{ ml} \cdot \text{min}^{-1}$, $t = 950^\circ\text{C}$



Obr. 4: Závislost absorbance na průtoku argonu před reakční cívku při dalším přiváděném argonu do separátoru fází

Vzorek: 200 ppb As v prostředí 1mol.l⁻¹ HCOOH

$c_{HCOOH} = 1 \text{ mol.l}^{-1}$ $L = 2,51 \text{ m}$, $V_{DS} = 1300 \text{ } \mu\text{l}$, $v_{H_2} = 25 \text{ ml.min}^{-1}$ (před reakční cívku), $v_{Ar} = 50 \text{ ml.min}^{-1}$ (do separátoru fází), $v_{HCOOH} = 2,9 \text{ ml.min}^{-1}$, $t = 950^\circ\text{C}$



Obr. 5: Závislost absorbance na průtoku argonu přiváděného do separátoru fází

Vzorek: 200 ppb As^{+III} v prostředí $1 \text{ mol} \cdot \text{l}^{-1} \text{ HCOOH}$

$c_{\text{HCOOH}} = 1 \text{ mol} \cdot \text{l}^{-1}$, $L = 2,51 \text{ m}$, $V_{DS} = 1300 \mu\text{l}$, $v_{H_2} = 25 \text{ ml} \cdot \text{min}^{-1}$ (před reakční

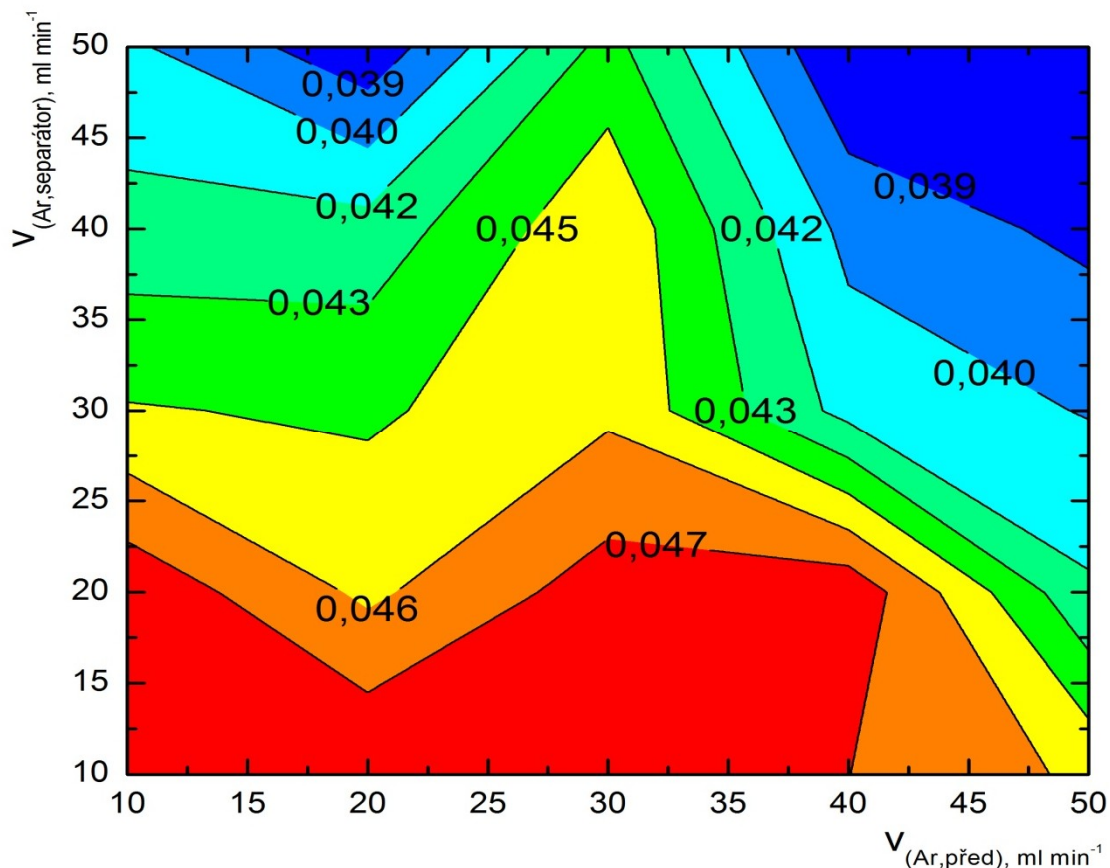
cívkou), $v_{Ar} = 40 \text{ ml} \cdot \text{min}^{-1}$ (reakční cívka), $v_{\text{HCOOH}} = 2,9 \text{ ml} \cdot \text{min}^{-1}$,

$t = 950^\circ\text{C}$

4.1.3 Optimalizace průtoků argonu - vrstevnicový graf

Pro ověření optimalizace průtokových rychlostí, argonu zaváděného do aparatury, provedené na základě změny vždy pouze jediného parametru, byl na základě nezávislého měření sestrojen vrstevnicový graf na Obr. 6. Na ose X jsou hodnoty průtoku argonu zaváděného před reakční cívka a na ose Y hodnoty průtoku argonu přiváděného do separátoru fází. Ze širokého rozmezí hodnot průtoků argonu reakční cívka generátoru $10\text{--}40 \text{ ml} \cdot \text{min}^{-1}$ poskytujících velkou odezvu byla jako nejvhodnější vybrána hodnota horní hranice tohoto rozmezí, protože při nižším průtoku byl zvýšený šum linie signálu. Nejvyšší hodnoty absorbance byly získány v rozmezí $10\text{--}20 \text{ ml} \cdot \text{min}^{-1}$

Ar zaváděného do separátoru fází, ale zde byla jako optimální vybrána dolní hranice rozmezí.



Obr. 6: Vrstevnicový graf závislosti absorpance na průtocích argonu

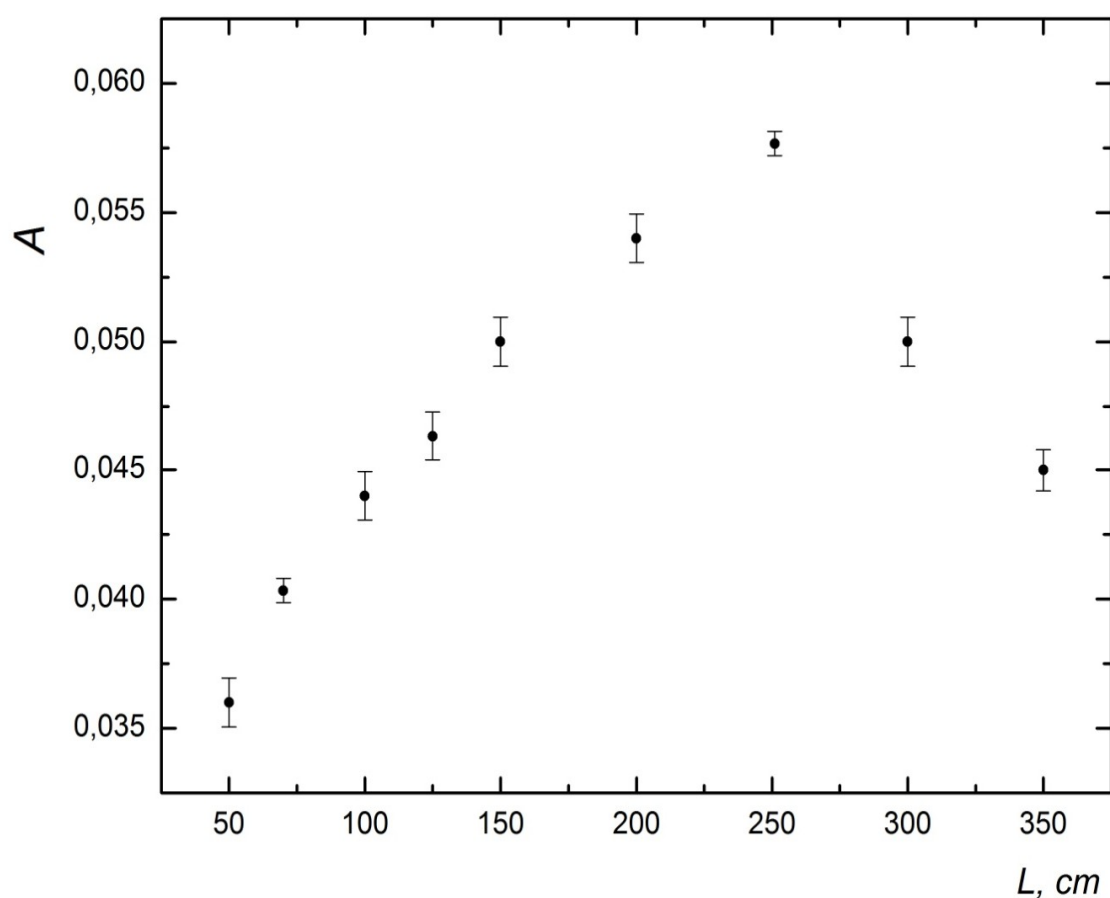
Vzorek: 200 ppb As v prostředí 1 mol.l^{-1} HCOOH

*$c_{\text{HCOOH}} = 1\text{ mol.l}^{-1}$, $L = 2,51\text{ m}$, $V_{\text{DS}} = 1300\text{ }\mu\text{l}$, $v_{\text{H}_2} = 25\text{ ml.min}^{-1}$ (před reakční
cívkou), $v_{\text{HCOOH}} = 2,9\text{ ml.min}^{-1}$, $t = 950^\circ\text{C}$*

4.1.4 Optimalizace délky reakční cívky

V dalším kroku byla změřena závislost absorpance na délce reakční cívky z PTFE omotané kolem nízkotlaké rtuťové zářivky bez luminiscenční vrstvy. Získaná závislost byla vynesena do grafu na Obr. 7 a v poměrně ostrém maximu byla odečtena délka reakční cívky 251 cm, která byla používána jako optimální pro všechna další měření.

Délka reakční cívky nepochybně také ovlivňuje dobu, po kterou se pohybuje analyt reaktorem UV-fotochemického generátoru těkavých sloučenin. Čím delší reaktor je použit, tím delší dobu je netěkavý prekursor ozařován UV světlem. Z poklesu absorbance v pravé části grafu vyplývá, že při příliš dlouhé době ozařování dochází k zániku těkavé sloučeniny již v generátoru, což je nejspíše způsobeno vysokou koncentrací generovaných radikálů.

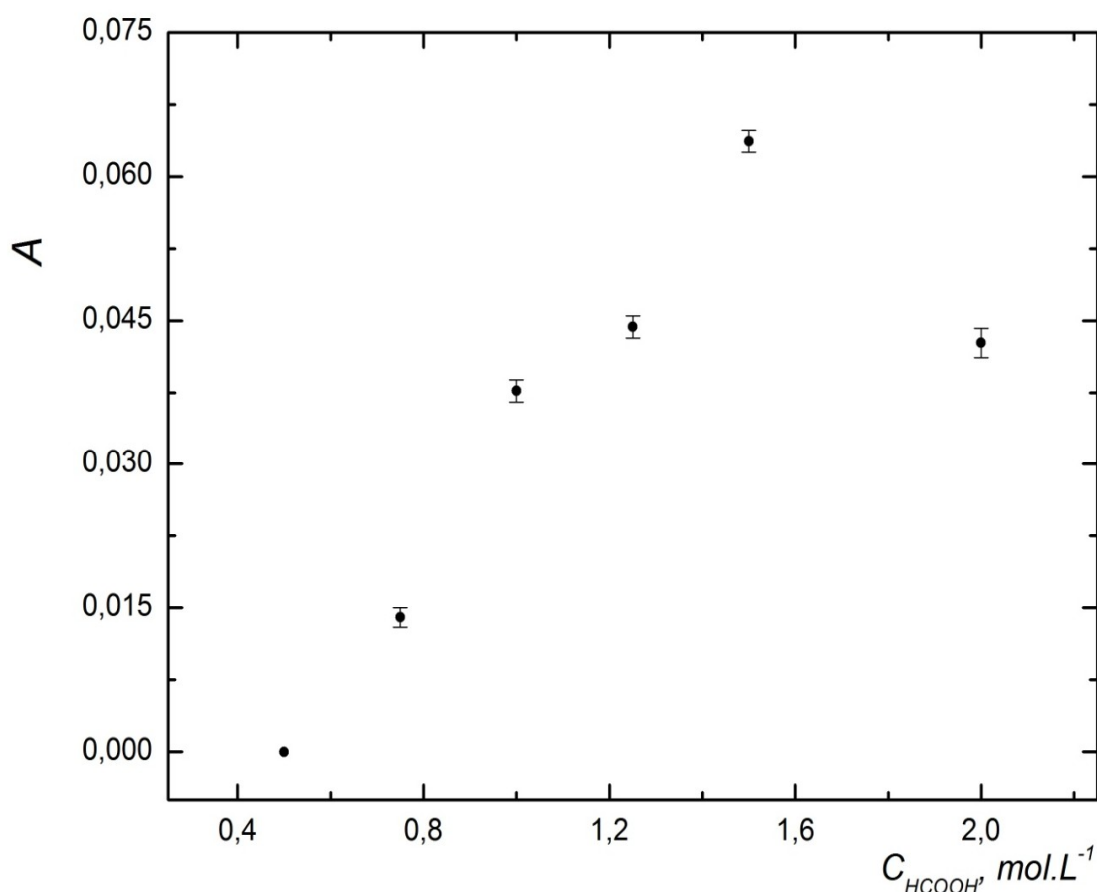


Obr. 7: Závislost absorbance na délce reakční cívky

Vzorek: 200 ppbAs^{+III} v prostředí 1 mol.l⁻¹ HCOOH,
V_{DS} = 1300 μl, v_{H₂} = 25 ml.min⁻¹ (před reakční cívkou), v_{Ar} = 10 ml.min⁻¹ (do
seprátoru fází), v_{Ar} = 40 ml.min⁻¹ (před reakční cívkou), v_{HCOOH} = 2,0
ml.min⁻¹, t = 950°C

4.1.5 Optimalizace koncentrace kyseliny mravenčí v nosném roztoku

Pro stanovení optimální koncentrace kyseliny mravenčí v nosném roztoku i v roztocích vzorků byly připraveny roztoky standardu, které obsahovaly výsledně vždy 200 ppb As a byly doplněny po rysku odměrné baňky vodným roztokem o příslušné koncentraci kyseliny mravenčí v rozmezí od 0 do 2 mol.l⁻¹. Odpovídající absorbance byly vyneseny do grafu na Obr.8. Absorbance se zvyšovala s rostoucí koncentrací HCOOH až do 1,5 mol.l⁻¹, kdy dosáhla maxima závislosti. Pokles absorbance při dalším zvýšení koncentrace kyseliny mravenčí byl markantní. Jako optimální byla vyhodnocena koncentrace 1,5 mol.l⁻¹.



Obr.8: Závislost absorbance na koncentraci kyseliny mravenčí

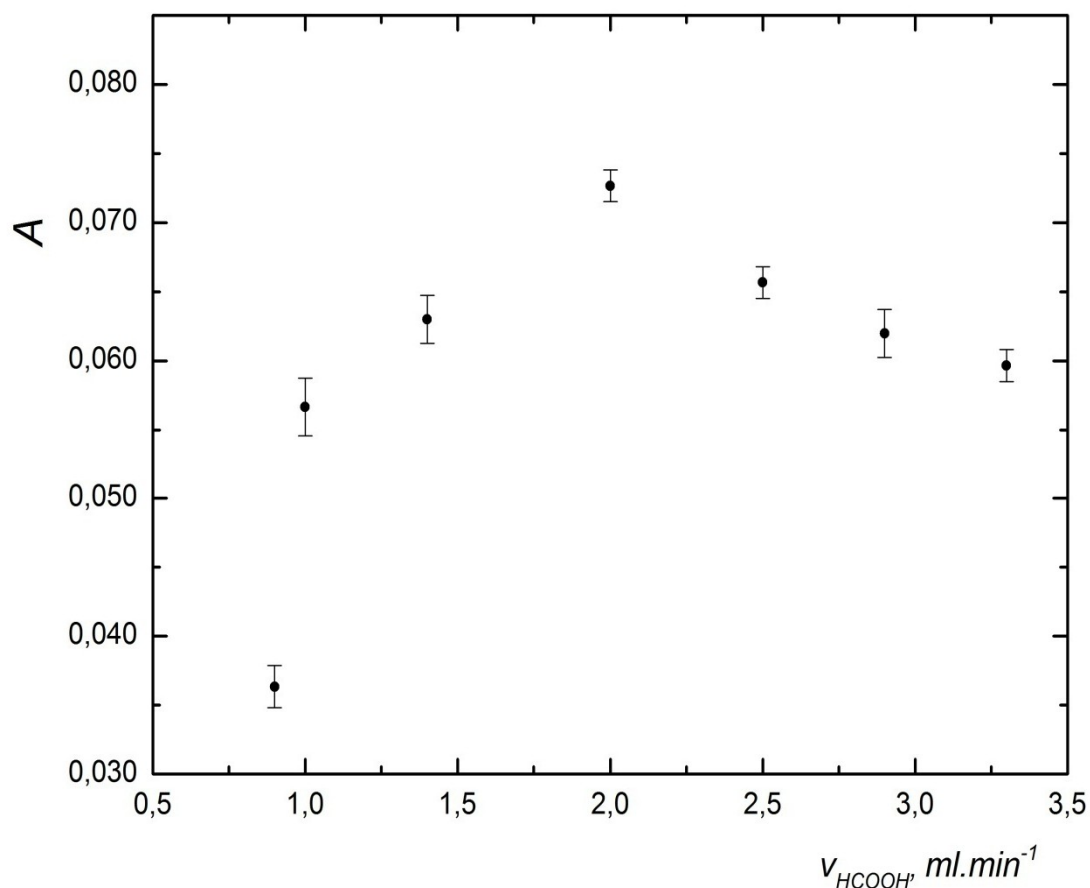
Vzorek: 200 ppb As HCOOH v intervalu od 0–2 mol.l⁻¹ HCOOH,

L= 2,51m, V_{DS} = 600μl, v_{H₂}= 25 ml.min⁻¹ (před reakční cívkou), v_{Ar}= 10 ml.min⁻¹ (do separátoru fází), v_{Ar}= 40 ml.min⁻¹ (před reakční cívkou),

v_{HCOOH}= 2,0 ml.min⁻¹, t= 950°C

4.1.6 Optimalizace průtoku nosného roztoku

Optimalizaci průtoku nosného roztoku předcházela kalibrace peristaltické pumpy na různé vnitřní průměry hadiček, protože na pumpě nebylo možné požadovanou průtokovou rychlost přímo navolit a měřit. Průtoková rychlost nosného roztoku rovněž ovlivňuje dobu setrvání analytu v reaktoru UV-fotochemického generátoru, ne ovšem tak významně jako průtoky před reaktor zaváděných plynů. Testovaný parametr ovšem řídí přísun nadávkovaného analytu za jednotku času. Z maxima grafu závislosti absorbance na průtokové rychlosti nosného roztoku uvedené na Obr. 9 byl určen optimální průtok $2,0 \text{ ml} \cdot \text{min}^{-1}$. U průtoků vyšších než $2,5 \text{ ml} \cdot \text{min}^{-1}$ při tomto měření nemohla být dodržena podmínka průtoku argonu před reakční cívkou na $40 \text{ ml} \cdot \text{min}^{-1}$ z důvodu přetlaku. Přetlak v hadičkách poté hnal kapalinu do průtokoměru pro plyny a hrozilo jeho zničení. Při těchto vysokých průtocích nosného roztoku tedy musel být průtok argonu téměř zdvojnásoben, což možná také přispělo k výslednému snížení odezvy.



Obr. 9: Závislost absorbance na průtoku nosného roztoku

Vzorek: 200 ppb As v prostředí 1,5 HCOOH mol.l⁻¹,

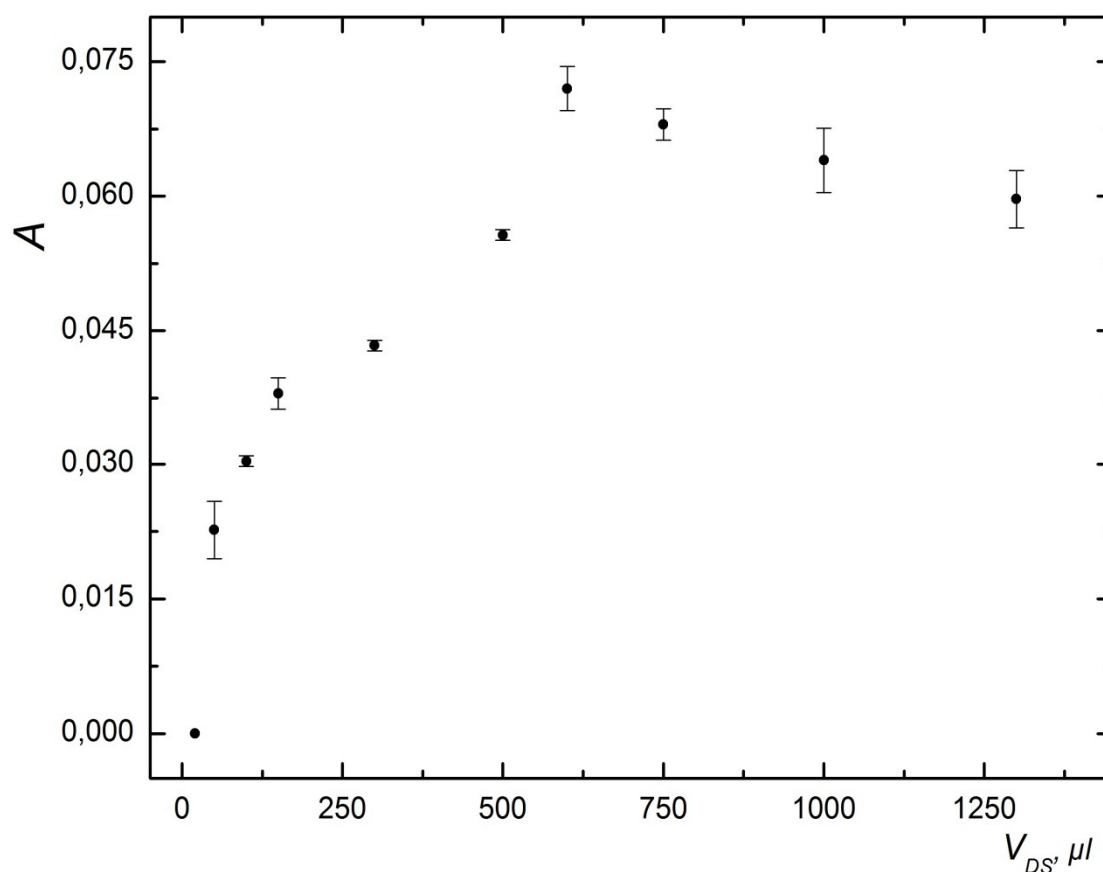
L = 2,51 m, $V_{DS} = 600 \mu\text{l}$, $v_{H_2} = 25 \text{ ml.min}^{-1}$ (před reakční cívkou), $v_{Ar} = 10 \text{ ml.min}^{-1}$ (do separátoru fází), $v_{Ar} = 40 \text{ ml.min}^{-1}$ (před reakční cívkou),

t = 950 °C

4.1.7 Optimalizace objemu dávkovací smyčky

K této optimalizaci bylo nutné vyrobit sadu dávkovacích smyček v rozsahu od 20 μl do 1300 μl a byla proměřena závislost absorbance na objemu dávkovací smyčky. Výsledky byly vyneseny do grafu na Obr. 10. Pro nejmenší dávkovaný objem vzorku nebyl naměřen signál vyšší než základní linie zřejmě proto, že absolutní nadávkované množství arsenu nedosahovalo meze detekce. Jak je patrné z grafu, původně očekávaný lineární trend růstu absorbance se zvyšujícím se objemem vzorku je do značné míry poznamenán fluktuací hodnot a lze ho pozorovat jen do objemu cca 600 μl . Mírný

pokles naměřených hodnot absorbance při použití dávkovacích smyček s postupně větším objemem také nemá logické opodstatnění. Dosažení maximální hodnoty by mohlo znamenat omezenou kapacitu UV-fotochemického generátoru.



Obr. 10: Závislost absorbance na objemu dávkovací smyčky

*Vzorek: 200 ppb As v prostředí 1,5 mol.l⁻¹ HCOOH,
 $L = 2,51\text{ m}$, $v_{H_2} = 25\text{ ml.min}^{-1}$ (před reakční cívkou), $v_{Ar} = 10\text{ ml.min}^{-1}$ (do
separátoru fází), $v_{Ar} = 40\text{ ml.min}^{-1}$ (před reakční cívkou), $v_{HCOOH} = 2,0$
 ml.min^{-1} , $t = 950^\circ\text{C}$*

4.1.8 Souhrn optimálních podmínek metody

Všechny optimální experimentální podmínky jsou přehledně shrnuté v Tab. 3. Tyto podmínky byly použity pro následné měření kalibrační závislosti.

Tab. 3 Souhrn optimálních podmínek

Koncentrace HCOOH v nosném roztoku	1,5 mol.l ⁻¹
Průtoková rychlost vodíku (před reakční cívkou)	25 ml.min ⁻¹
Průtoková rychlost argonu (před reakční cívkou)	40 ml.min ⁻¹
Průtoková rychlost argonu (do separátoru fází)	10 ml.min ⁻¹
Objem dávkovací smyčky	600 µl
Průtoková rychlost nosného roztoku	2,0 ml.min ⁻¹
Délka reakční cívky	251 cm
Teplota atomizátoru	950 °C

4.2 Kalibrace

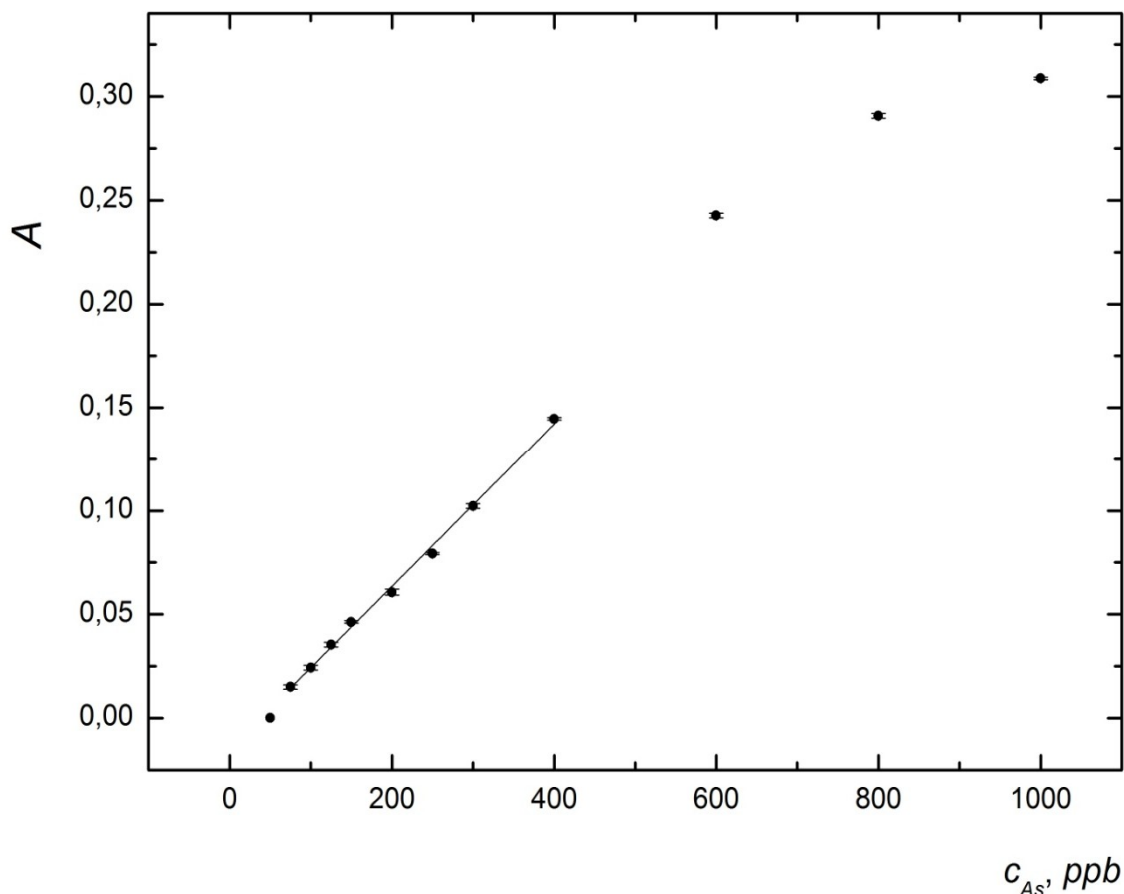
Za účelem porovnání citlivostí stanovení arsenu se stejným detektorem (AAS spektrometrem) byly naměřeny dvě kalibrační závislosti. První z nich byla získána při použití navrhované metody UV-fotochemického generování těkavých sloučenin arsenu a druhá s použitím běžně používaného chemického generování arsenovodíku za použití roztoků HCl a NaBH₄.

4.2.1 Kalibrace při použití UV-fotochemického generování

Byla vytvořena sada standardů obsahujících As v rozsahu od 50 ppb do 1000 ppb v roztoku 1,5 mol.l⁻¹ kyseliny mravenčí. Měření závislosti byla prováděna za optimálních podmínek (Tab. 3) a hodnoty absorbance byly vyneseny do grafu na Obr. 11 oproti příslušným koncentracím. Dle korelačního koeficientu byla určena

lineární část a proložena přímkou. Pracovní rozsah byl určen v rozsahu od 150 ppb do 400 ppb a je zobrazen na Obr. 13.(str.38)

Z této lineární části kalibrace byla vypočtena mez detekce (LOD= 45 ppb) ze směrodatné odchylky 10-ti měření po sobě s koncentrací 75 ppb a mez stanovitelnosti (LOQ= 150 ppb). Také byla vypočtena opakovatelnost měření (1,5%) z relativní směrodatné odchylky 10-ti měření po sobě s koncentrací As 300 ppb.



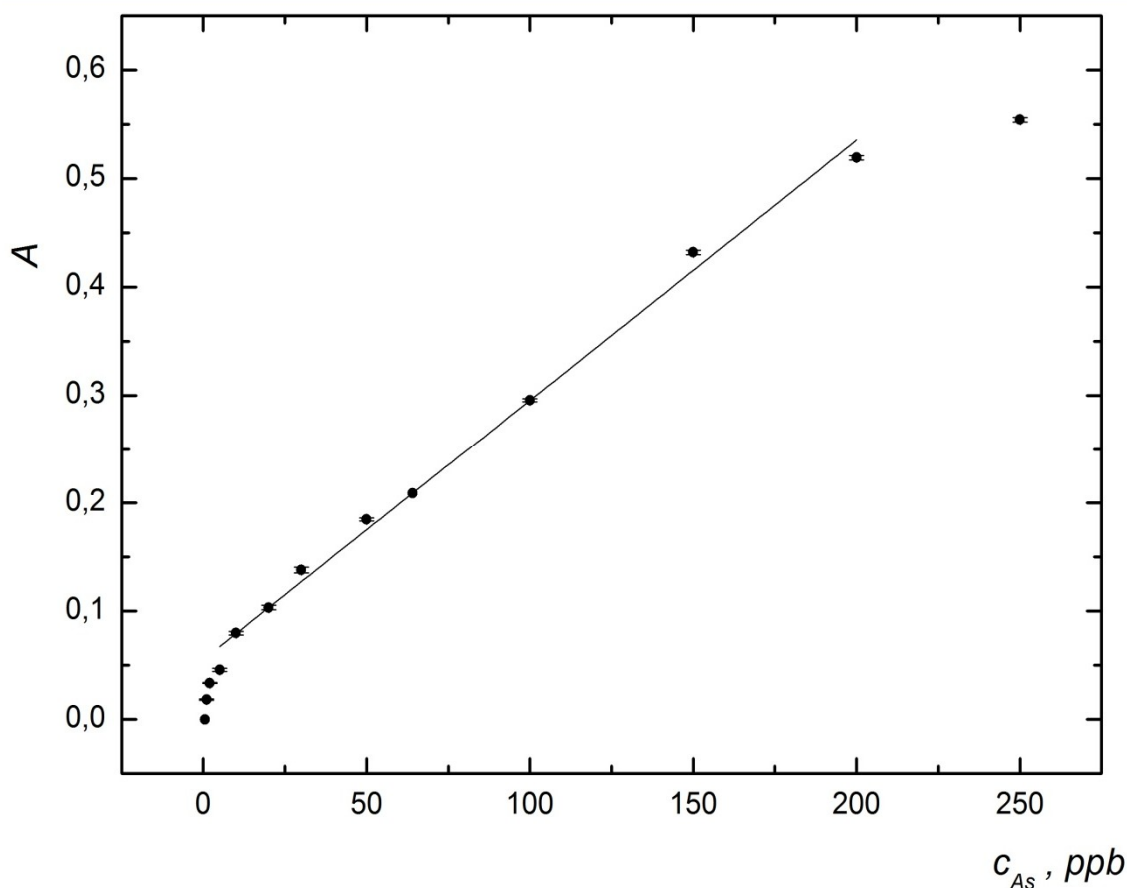
Obr. 11: Kalibrační závislost absorbance na koncentraci As při UVHG

$c_{HCOOH} = 1,5 \text{ mol.l}^{-1}$, $L = 2,51 \text{ m}$, $V_{DS} = 600 \text{ } \mu\text{l}$, $v_{H_2} = 25 \text{ ml.min}^{-1}$ (před reakční cívkou), $v_{Ar} = 40 \text{ ml.min}^{-1}$ (před reakční cívkou), $v_{Ar} = 10 \text{ ml.min}^{-1}$ (do separátoru fází), $v_{HCOOH} = 2,0 \text{ ml.min}^{-1}$,
 $t = 950^\circ\text{C}$

4.2.2 Kalibrace při chemickém generování arsenovodíku

Byla vytvořena sada kalibračních roztoků obsahujících As v rozsahu od 0,5 ppb do 250 ppb v roztoku 1 mol.l^{-1} kyseliny chlorovodíkové. Průtoková rychlost nosného roztoku zůstala stejná jako v případě UV-fotochemického generování, tj. $2,0 \text{ ml.min}^{-1}$. Průtok nosného roztoku $0,2 \text{ mol.l}^{-1}$ NaBH_4 stabilizovaného $0,1 \text{ mol.l}^{-1}$ NaOH byl $2,0 \text{ ml.min}^{-1}$. Průtoky argonu oběma cestami i teplota atomizace byly zachovány jako při UV-fotochemickém generování, ale žádný plynný vodík nebyl přidáván, protože je tvořen při reakci NaBH_4 s HCl . Hodnoty naměřené absorbance byly vyneseny do grafu na Obr. 12 oproti příslušným koncentracím As. Dle korelačního koeficientu byla určena lineární část a proložena přímkou. Pracovní rozsah byl určen v rozsahu od 5,7 ppb do 200 ppb a je zobrazen na Obr. 13.(str.38)

Z této lineární části byla vypočtena mez detekce ($\text{LOD} = 1,7 \text{ ppb}$) ze směrodatné odchylky 10-ti měření po sobě s koncentrací 1 ppb a mez stanovitelnosti ($\text{LOQ} = 5,7 \text{ ppb}$). Také byla vypočtena opakovatelnost měření (6,1%) z relativní směrodatné odchylky 10-ti měření po sobě s koncentrací 50 ppb.

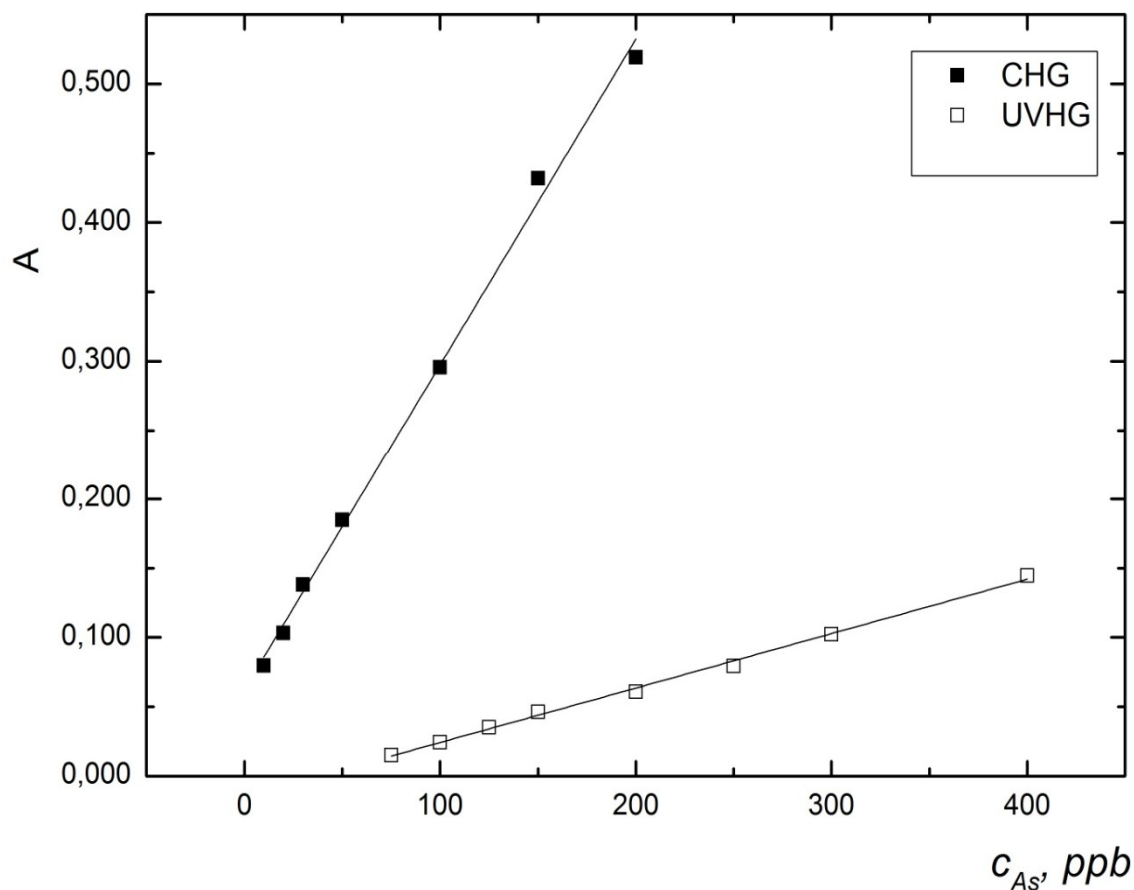


Obr. 12: Kalibrační závislost absorbance na koncentraci As při CHG

$c_{HCl} = 1,5 \text{ mol.l}^{-1}$, $c_{NaBH_4} = 0,2 \text{ mol.l}^{-1}$, $c_{NaOH} = 0,1 \text{ mol.l}^{-1}$, $L = 2,51 \text{ m}$, $V_{DS} = 600 \mu\text{l}$, $v_{Ar} = 40 \text{ ml.min}^{-1}$ (před reakční cívkou), $v_{Ar} = 10 \text{ ml.min}^{-1}$ (do separátoru fází), $v_{HCl} = 2,0 \text{ ml.min}^{-1}$, $v_{NaBH_4} = 2,0 \text{ ml.min}^{-1}$
 $t = 950^\circ\text{C}$

4.2.3 Porovnání UV-fotochemického a chemického generování těkavých sloučenin arsenu

Pro porovnání citlivostí stanovení arsenu různým způsobem generování těkavých sloučenin za použití stejné detekce a přibližně stejných experimentálních podmínek byl sestaven graf lineárních částí kalibrací CHG a UVHG uvedený na Obr. 13. Vzájemným porovnáním směrnic proložených přímkou bylo zjištěno, že citlivost UVHG je přibližně 16,5 % z citlivosti CHG.



Obr. 13 Lineární části kalibračních závislostí chemického a UV-fotochemického generování těkavých sloučenin arsenu

CHG: $c_{HCl} = 1,5 \text{ mol.l}^{-1}$, $c_{NaBH_4} = 0,2 \text{ mol.l}^{-1}$, $c_{NaOH} = 0,1 \text{ mol.l}^{-1}$, $L = 2,51 \text{ m}$,
 $V_{DS} = 600 \mu\text{l}$, $v_{Ar} = 40 \text{ ml.min}^{-1}$ (před reakční cívkou), $v_{Ar} = 10 \text{ ml.min}^{-1}$ (do
separátoru fázi), $v_{HCl} = 2,0 \text{ ml.min}^{-1}$, $v_{NaBH_4} = 2,0 \text{ ml.min}^{-1}$, $t = 950^\circ\text{C}$
UVHG: $c_{HCOOH} = 1,5 \text{ mol.L}^{-1}$, $L = 2,51 \text{ m}$, $V_{DS} = 600 \mu\text{l}$, $v_{H_2} = 25 \text{ ml.min}^{-1}$
(před reakční cívkou), $v_{Ar} = 40 \text{ ml.min}^{-1}$ (před reakční cívkou), $v_{Ar} = 10$
 ml.min^{-1} (do atomizátoru), $v_{HCOOH} = 2,0 \text{ ml.min}^{-1}$, $t = 950^\circ\text{C}$

V Tab. 4 je uveden přehledný souhrn základních charakteristik stanovení arsenu pomocí UV-fotochemického a chemického generování těkavých sloučenin s AAS detekcí.

Tab. 4 Souhrn základních charakteristik stanovení As pomocí UVHG a CHG s AAS detekcí

Parametr	UVHG	CHG
LOD (ppb)	45	1,7
LOQ (ppb)	150	5,7
Citlivost (ppb ⁻¹)	$3,9 \cdot 10^{-4}$	$2,4 \cdot 10^{-3}$
Opakovatelnost (RSD, %)	1,5	6,1
Rozsah (ppb)	150 – 400	5,7 – 200

Z hodnot uvedených v tabulce vyplývají podstatná omezení pro použití UV-fotochemického generování pro stanovení nízkých koncentrací arsenu. Nízká citlivost společně s vysokou mezí stanovitelnosti podstatně zužuje rozsah použitelnosti metody. Jediným kladem navrhované metody se zdá být nízká opakovatelnost vyjádřená jako relativní směrodatná odchylka v procentech.

Vylepšením parametrů stanovení arsenu pomocí UV-fotochemického generování jeho těkavých sloučenin se bude zabývat ještě minimálně další bakalářská práce, která bude mapovat interference při tomto stanovení, s cílem nalézt vhodný reakční modifikátor, který by citlivost stanovení výrazně zvýšil.

5. Závěr

V této bakalářské práci byla nejprve sestavena aparatura pro stanovení arsenu pomocí UV-fotochemického generování jeho těkavé sloučeniny s AAS detekcí. Po počátečních potížích získat alespoň nějakou odezvu bylo postupnými úpravami aparatury a experimentálních podmínek dosaženo takových hodnot absorbance, se kterými již bylo možné provádět optimalizaci. Klíčovými parametry byly: délka reakční cívky ozařované UV světlem; místo zavádění reakčního plynu (vodíku) před UV-fotoreaktor a nosného plynu (argonu) před UV-fotoreaktor a do separátoru fázi a jejich průtoky; koncentrace kyseliny mravenčí v nosném roztoku a jeho průtoková rychlost a velikost dávkovaného objemu vzorku.

Za optimálních podmínek navrhované metody byla naměřena kalibrační závislost pro stanovení arsenu pomocí UV-fotochemického generování jeho těkavé sloučeniny s AAS detekcí. Jako reference bylo použito běžně používané stanovení arsenu pomocí chemického generování jeho hydridu. Z porovnání těchto metod vychází chemické generování jednoznačně jako metoda citlivější, protože lze stanovovat koncentrace již od 5,7 ppb As, zatímco metodou UV-fotochemického generování lze stanovovat koncentrace až od 150 ppb As. Za stávajících podmínek je UV-fotochemické generování těkavých sloučenin z důvodu velmi nízké citlivosti (přibližně 16,5 % oproti chemickému generování) pro stanovení arsenu nevhodné.

Pokračováním této bakalářské práce v rámci systematického studia využitelnosti různých způsobů generování těkavých sloučenin pro stanovení vybraných prvků bude studium interferencí při stanovení arsenu při použití UV-fotochemického generování s vizí nalezení vhodného reakčního modifikátoru, který by významně zvýšil citlivost takového stanovení.

6. Literatura

- 1 Francesconi K. A.; Kuehnelt D.; Environmental chemistry of arsenic (3); W.T. Frankenberger (ed.); New York; Marcel Dekker (2002)
- 2 Jain C. K.; Ali I.; Arsenic: Occurrence, Toxicity and Speciation Techniques; *Water Research*; **34**:17; 4304-4312; (2000)
- 3 Greenwood N. N.; Earnshaw A.; *Chemistry of the Elements*; 2.vydání; Oxford; Elsevier; (1997)
- 4 Gong Z.; Lu X.; Ma M.; Watt, C.; Le X. Ch.; Arsenic speciation analysis; *Talanta*; **58**:1; 77-96; (2002)
- 5 (Cullen W. R., Reimer, K. J., Arsenic speciation in the environment, *Chemical Reviews*, **89**:4, 713-764. (1989).
- 6 Technical Learning College; *Arsenic continuing education professional development course*. Dostupné z URL:
<http://www.abctlc.com/courses/Arsenic.pdf> [cit. 13.3.2015]
- 7 Smedley P. L.; Kinniburgh D. G.; A review of the source; behaviour and distribution of arsenic in natural waters; *Applied geochemistry*; **17**:5; 517-568 (2002)
- 8 Ma L. Q.; Komar K. M.; Tu C.; Zhang W.; Cai Y.; Kennelley E. D.; A fern that hyperaccumulates arsenic; *Nature*; **409**:6820; 579-579 (2001)
- 9 WHO; Guidelines for Drinking-Water Quality. 3rd edition; Geneva 2004
dostupné z URL :
http://www.who.int/water_sanitation_health/dwq/GDWQ2004web.pdf
[cit. 16.2.2015]
- 10 Pomykačová I.; Kožíšek F.; Weyessa Gari D.; Němcová V.; Nešpůrková L.; Problematika arsenu v pitné vodě v České republice; Sborník konference Pitná voda 2010, s. 145-150; Č. Budějovice; W&ET Team (2010)
- 11 Ing. Sergej Ust'ak, CSc.; Výzkumný ústav rostlinné výroby (VÚRV); *Doporučení pro pěstování zemědělských plodin v podmínkách vysoké kontaminace zemědělských půd arsenem*; Praha–Ruzyně (2001) dostupné z URL: www.mu.kutnahora.cz/data/pageadds/1265_2000.doc [cit. 15.4 2015]
- 12 *Handbook of Arsenic Toxicology*; S.J.S. Flora (ed.); Oxford; Elsevier (2015)
- 13 Henke, K.R.; *Arsenic: Environmental Chemistry, Health Threats and Waste Treatment*; Chichester – UK; John Wiley & Sons; (2009)
- 14 B.Vantroyen; J.F. Heilier; A.Meulemans; A. Michels; J.P. Buchet; S. Vanderschueren; V. Haufröid; M.Sabbe; Survival After a Lethal Dose of Arsenic Trioxide; *Journal of Toxicology*; **42**:6; 889–895 (2004)
- 15 *Atomic absorption spectrometry*, Cantle J. E. (Ed.), New York, Elsevier (1986)
- 16 Komárek J.; *Atomová absorpční spektrometrie*; Brno; Masarykova univerzita; (2000)
- 17 Němcová I.; Čermáková L.; Rychlovský P.; *Spektrometrické analytické metody I*. Univerzita Karlova; (2004)

- 18 Guo X.; Sturgeon R. E.; Mester Z.; Gardner G. J.; Vapor generation by UV irradiation for sample introduction with atomic spektrometry; *Analytical chemismy*; **76**:8; 2401-2405 (2004)
- 19 (Francesconi K. A.; Kuehnelt D.; Determination of arsenic species: a critical review of methods and applications; *Analyst*; **129**:5; 373-395; (2004).
- 20 Holak W.; Gas-sampling technique for arsenic determination by atomic absorption spectrophotometry; *Analytical chemismy*; **41**:12; 1712-1713 (1969)
- 21 D'Ulivo A.; Dědina J.; Mester Z.; Sturgeon R. E.; Wang Q.; Welz, B.; Mechanisms of chemical generation of volatile hydrides for trace element determination (IUPAC Technical Report); *Pure and Applied Chemistry*, **83**:6, 1283-1340 (2011)
- 22 I.Hagarová; M. Žamberyová; Stanovenie arzenu v biologickom materiáli a vo vzorkách životného prostredie technikami atómovej absorpčnej spektrometrie; *Chem. Listy* 99; 578 – 584 (2005)
- 23 Hraníček J.; Červený V.; Rychlovský P.; Stanovení ultrastopových koncentrací selenu a arsenu v pitných vodách metdou ECHG-QFAAS, *Chemické listy*, **104**:12, 1196-1203 (2010).
- 24 Guo X.; Sturgeon R. E.; Mester Z.; Gardner G. J.; UV vapor generation for determination of selenium by heated quartz tube atomic absorption spektrometry; *Analytical chemismy*; **75**:9; 2092-2099 (2003)
- 25 Guo X.; Sturgeon R. E.; Mester Z.; Gardner G. J.; Vapor generation by UV irradiation for sample introduction with atomic spektrometry; *Analytical chemistry*; **76**:8; 2401-2405; (2004).
- 26 Sturgeon R. E.; Grinberg P.: Some speculations on the mechanisms of photochemical vapor generation.; *Journal of Analytical Atomic Spectrometry*; **27**:2; 222-231 (2012)
- 27 Duan, H., Gong, Z., & Yang, S. (2015). Online photochemical vapour generation of inorganic tin for inductively coupled plasma mass spectrometric detection. *Journal of Analytical Atomic Spectrometry*.
- 28 Miller J. N.; Miller J. C.;. *Statistics and chemometrics for analytical chemistry*. Pearson Education; (2005)
- 29 Armbruster D. A.; Tillman M. D.; Hubbs L. M.; Limit of detection (LQD)/limit of quantitation (LOQ): comparison of the empirical and the statistical methods exemplified with GC-MS assays of abused drugs; *Clinical chemismy*; **40**:7; 1233-1238 (1994)